

## 4. 新規抗ヘルペスウイルス剤

栄 鶴 義 人

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科附属難治ウイルス病態制御研究センター・分子ウイルス感染研究分野

現在使用されている抗ヘルペスウイルス薬は、最終的な標的がウイルス DNA polymerase であり、長期に渡って使用すると必然的に薬剤耐性ウイルスを生じ、しかも、しばしば交差耐性を示す。更に、現在の抗ヘルペスウイルス薬は、経口投与による吸収が悪く、何らかの副作用がある場合が多い。従って、作用機序を異にする新たな薬剤が求められている。このような新たな薬剤として、helicase/primase 複合体, terminase 複合体, portal protein, さらに、サイトメガロウイルス (HCMV) の UL97 protein kinase など標的とする抗ヘルペスウイルス化合物が見出されている。このような化合物が臨床応用できるようになると、多剤併用療法などヘルペスウイルス感染症の治療は全く新しい局面を迎えることになる。

### はじめに

現在ヒトヘルペスウイルス (human herpesviruses) は、8種類が知られており、ヒトに対して様々な病気を引き起こす。ヘルペスウイルス感染の最も特徴的なことは、一旦感染が成立すると、ウイルスは終生体内に持続・潜伏して存続し、時に再活性化して回帰発症を起こすことである<sup>1)</sup>。ヘルペスウイルス科に属するウイルスは、物理化学的性状、塩基配列などの遺伝学的性状、さらに、宿主域や潜伏感染する細胞などの生物学性状により、アルファ( $\alpha$ )、ベータ( $\beta$ )、ガンマ( $\gamma$ )の3つの亜科(subfamily)に分類される。

$\alpha$ ヘルペスウイルス亜科は、単純疱疹ウイルス1型 (herpes simplex virus type 1: HSV-1)、2型 (HSV-2)、および、帯状疱疹ウイルス (varicella-zoster virus: VZV) より成り、皮膚粘膜の上皮細胞に感染し、神経節に潜伏感染する<sup>2)</sup>。HSV-1は、歯肉口内炎、口唇ヘルペス、ヘルペス角膜やヘルペス脳炎を起こし、HSV-2は性器ヘルペスを起こす。VZVは、初感染で水痘を起こし、神経節から再活性化して帯状疱疹を起こす。 $\beta$ ヘルペス亜科は、サ

イトメガロウイルス (cytomegalovirus: CMV)、ヒトヘルペスウイルス6型、7型 (human herpesvirus type 6, type 7: HHV-6, HHV-7) より成り、Tリンパ球や単球/マクロファージ系の細胞に潜伏感染する<sup>3,4,5)</sup>。CMVの初感染は、通常不顕性に経過するが、免疫の未熟な胎児や免疫の低下したエイズ患者、臓器移植患者、および、癌患者などの易感染性宿主では、CMV脳炎、CMV網膜炎、肺炎など重篤な病態を引き起こす<sup>6)</sup>。HHV-6とHHV-7は共に乳児の突発性発疹の原因である。 $\gamma$ ヘルペス亜科は、Epstein-Barr virus (EBV) と human herpesvirus type 8 (HHV-8) より成り、リンパ球に感染し、潜伏する。EBVは、伝染性単核症を起こし、バーキットリンパ腫や上咽頭癌などのヒトの腫瘍、さらに、エイズ患者や移植患者での日和見Bリンパ腫等々との関連が深い。HHV-8は、エイズ患者に見られるカポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma)、primary effusion B-cell lymphoma および multicentric Castleman's lymphoma と深い関連が認められる<sup>7)</sup>。

### 1. 現行の抗ヘルペスウイルス化学療法

ヘルペスウイルスは宿主に潜伏感染を起こし、抵抗力が低下すると再発を繰り返す。従って、単なるウイルスの増殖抑制のみでは、潜伏感染しているウイルスを宿主から排除できず、根治することは不可能である<sup>8,9)</sup>。現在使用されている抗ヘルペス剤はいずれもウイルス増殖の抑制剤であり、再活性化を抑制するに止まっている。ヘルペスウイルスは約120 kbp~235 kbpの大きさのゲノムを持ってお

### 連絡先

〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘835-1

TEL: 099-275-5935

FAX: 099-275-5937

E-mail: ccvdgan@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp

り、50個以上のウイルス増殖に必須の遺伝子をコードしている<sup>9)</sup>。これらウイルス増殖に必須などの遺伝子産物でも抗ヘルペス剤の標的になりうるが、現在使用されている抗ヘルペス剤は、ウイルス DNA polymerase を最終標的としたものである。現在良く使用されている抗ヘルペスウイルス剤は、化学的に3つのグループに、すなわち、ヌクレオシド類似体 (nucleoside analogs)、ヌクレオチド類似体 (nucleotide analogs)、および、ピロリン酸類似体 (pyrophosphate analog) に分類できる<sup>8)</sup>。最初のヌクレオシド類似体には、アシクロビル (acyclovir : ACV)、ガンシクロビル (ganciclovir : GCV)、ペンシクロビル (penciclovir : PCV)、および、ピリブジン (BVDU) がある。ヌクレオチド類似体ではシドフォビル (cidofovir : CDV) が使用され、ピロリン酸類似体としてはフォスカルネット (foscarnet : PFA) が使用されている。

ヌクレオシド類似体やヌクレオチド類似体は、ウイルス DNA polymerase の基質となるが、その為には感染細胞内で三リン酸化され活性型になる必要がある。ACV、GCV、PCV および BVDU のリン酸化はウイルスの酵素によって起こる。すなわち、HSV-1、HSV-2 および VZV の thymidine kinase (TK) によって ACV、PCV、BVDU は一リン酸化され、GCV は CMV の UL97 protein kinase によって一リン酸化される<sup>10, 11)</sup>。BVDU を除いては、細胞の酵素で二、三リン酸化され活性型となる。BVDU はウイルスの TK で二リン酸化され、細胞の酵素で三リン酸化され活性型となる。これら活性型の類似体は、ウイルス DNA polymerase の基質として、三リン酸化核酸と競合して DNA の合成を阻害し、また、合成中の DNA に取り込まれると、ウイルス DNA の伸長が停止する。ACV、GCV、PCV は経口吸収が悪いので、経口吸収を改善したこれらの薬剤のプロドラッグである、valacyclovir (VAL)、valganciclovir (VGCV)、famciclovir (FAM) が開発されている。現在、ACV、GCV、PCV とそのプロドラッグが HSV、CMV、お

よび、VZV 感染症の第一線の薬剤として治療に使用されている。しかしながら、易感染性宿主では長期間に渡りこれらの薬剤を使用する必要があり、必然的に薬剤耐性ウイルスが出現する。これら薬剤耐性ウイルスは、リン酸化酵素遺伝子 (TK や UL97 protein kinase) の変異、もしくは、DNA polymerase 遺伝子の変異、あるいは、双方の遺伝子に変異を持っている。

BVDU は、ピリジン (pyridine) を含むヌクレオシド類似体であり、 $\alpha$  ヘルペス亜科、特に VZV に対して著効を示す<sup>12)</sup>。BVDU は経口投与による吸収も良く、帯状疱疹の治療に極めて有効である<sup>13)</sup>。しかしながら、1995年我が国で、同じような構造を持つソリブジン (BV-araU) と抗腫瘍剤 5-FU との併用で死亡者が出たため、BVDU の使用はドイツやイタリアなどに限定されている。

薬剤耐性ウイルスに対しては、PFA と CDV が治療に使用されている。PFA は直接 DNA polymerase を抑制する<sup>14)</sup>。CDV は、すでにリン酸基の一つを持っており、感染細胞内で細胞の酵素により2個のリン酸を付加され活性型となり、DNA polymerase を抑制する<sup>15, 16)</sup>。両者共に経口吸収は極端に悪い。PFA は日本でも認可されているが、CDV は現在でも認可されていない。ホミビルセン (fomivirsen) は、実用化された最初のアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、CMV の前初期抗原 2 (immediate early antigen 2 : IE2) の転写を阻害する<sup>17)</sup>。欧米でエイズ患者の CMV 網膜炎への眼内投与が認可されているが<sup>18)</sup>、日本では認可されていない。

## 2. 新規ウイルス DNA 合成阻害剤

### 1) ヌクレオシド化合物

BVDU に構造が良く似た一連の Bicyclic pyrimidine nucleoside analogues (BCNAs) が合成され、BVDU より 10 ~ 20 倍 VZV に効果的な化合物 (Cf1368 と Cf1743) が見出された (図 1)<sup>19)</sup>。これらの BCNAs 化合物は、VZV に

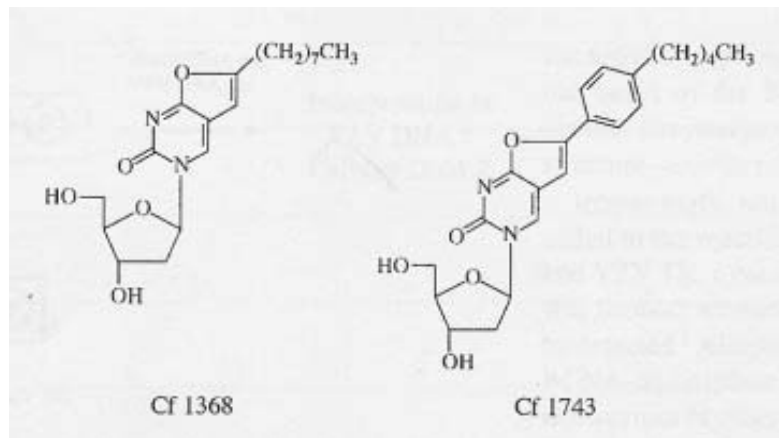


図 1 Bicyclic pyrimidine nucleoside analogues (BCNAs) の構造

対して  $ED_{50}$  がそれぞれ  $0.027 \mu M$  と  $0.0002 \mu M$  であり, selective index は約  $10^6$  と極めて選択毒性が高い. さらに, BCNAs は, VZV に特異性が高く, HSV-1, HSV-2, HCMV やサル水痘ウイルス (simian varicella virus: SVV) には全く効果を示さない<sup>19, 20)</sup>. BCNAs は, VZV の TK のみで一リン酸化, 二リン酸化される. しかし, 細胞抽出液と二リン酸された BCNAs を反応させても, 三リン酸化された BCNAs は生成されず, 最終的な作用機序は不明である<sup>19)</sup>. また, ソリブジン (BVaraU) や BVDU の分解塩基である BVU は, dihydro-pyrimidine dehydrogenase (DPD) の活性を阻害し, 抗がん剤 5-FU の分解を妨げ, 体内の 5-FU 濃度が上昇して, 死者を出した. しかし, BCNAs の分解塩基は, DPD に対して活性阻害を示さず, マウスに 5-FU を同時投与しても血中 5-FU 濃度の上昇は認めなかった<sup>19)</sup>. 今後の臨床応用が期待されている.

## 2) 非ヌクレオシド DNA polymerase 抑制化合物

CMV の DNA polymerase 抑制化合物のスクリーニングにより, リード化合物として naphthalene carboxamide, PNU-26370 を得た. さらにこの化合物よりも非常に効果的な 4-oxo-dihydroquinolines (4-oxo-DHQs), PNU-182171 と PNU-183792 が合成された (図 2)<sup>21, 22, 23)</sup>. これらの物質は, CMV の DNA polymerase 活性のみならず, HSV-1, HSV-2, VZV の DNA polymerase 活性をも抑制し, これらのウイルス増殖も抑制した. また, PNU-183792 は HHV-8 の DNA polymerase 活性を抑制したが, HHV-6 の DNA polymerase 活性は抑制せず, HHV-8 の増殖は抑制するが, HHV-6 の増殖は抑制しない<sup>24)</sup>.

4-oxo-DHQs の作用機序を明らかにする為に,  $20 \mu M$  の

PNU-182171 存在下で HSV-1 の耐性ウイルスを分離し, DNA polymerase 遺伝子の変異を調べたところ, DNA polymerase 遺伝子の保存領域 III の V823A の変異がみられた<sup>24)</sup>. CMV でも同様に V823A と V824L の変異が認められた. コドン 823 の valine は 8 種のヒトヘルペスウイルスの 6 種 (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-8) で保存されていた. 一方, HHV-6 と HHV-7 ではコドン 823 に alanine を含んでおり, この alanine を valine に変化させると 4-oxo-DHQs により DNA polymerase の活性が抑制された. さらに, 4-oxo-DHQs は, 既存の薬剤耐性ウイルスにも効果があり, 場合によっては高感受性を示すこともある<sup>24)</sup>. 4-oxo-DHQs は広汎なヘルペスウイルスに効果があり, 特に各種のヘルペスウイルス感染症が見られる易感染性宿主への応用が期待される<sup>23)</sup>.

## 3) helicase/primase 複合体抑制化合物

helicase/primase 複合体は, ヘルペスウイルスの DNA 複製に必須のものであり<sup>25)</sup>, HSV の helicase/primase は UL5, UL8 および UL52 の 3 つの遺伝子産物により構成されている. ウイルスの helicase/primase 複合体には, DNA helicase, RNA polymerase (primase) および ssDNA-stimulated ATPase の 3 つの活性がある<sup>26, 27)</sup>. helicase/primase 複合体は, 二重鎖ウイルス DNA を巻き戻し, DNA polymerase による lagging strand 生合成の為にプライマーとなる RNA を合成する. この helicase/primase 複合体を標的としてウイルス増殖を阻害するものとして, thiazole amide 化合物と thiazolyphenyl 誘導体の 2 種類が見出されている (図 3)<sup>25, 26, 28)</sup>. Thiazole amide 化合物の BAY 57-1293 は ssDNA-stimulated ATPase 活性を抑制し, thiazolyphenyl

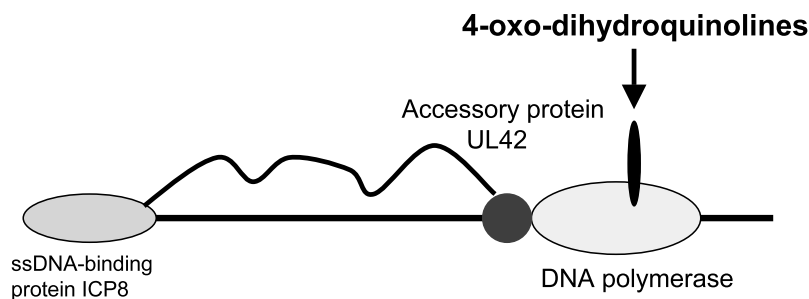
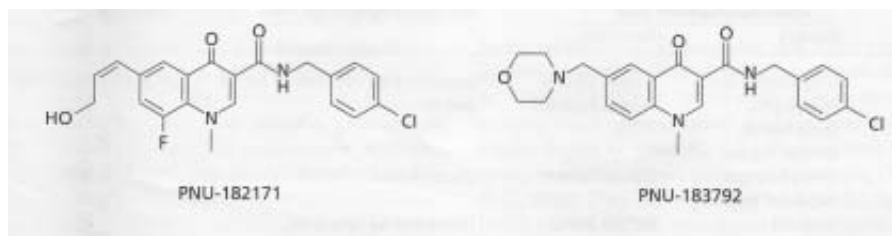


図 2. 4-oxo-DHQs の構造と作用機序

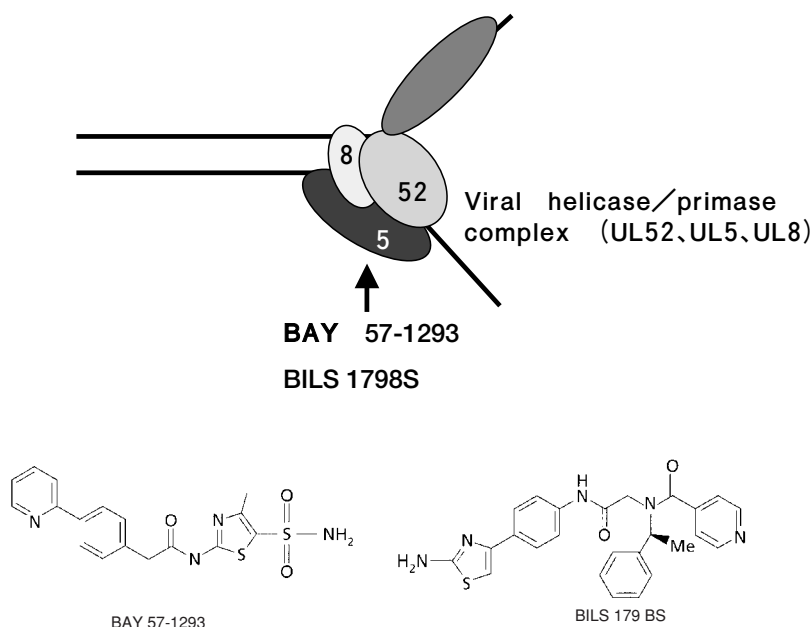


図3. Helicase/primase 抑制化合物の構造と作用機転

誘導体の BILS 179 BS はウイルスの helicase 活性, primase 活性, ssDNA-stimulated ATPase 活性を抑制する. BILS 179 BS は, DNA と酵素との親和性を増強し<sup>26)</sup>, 結果的にウイルスの helicase/primase の触媒反応の進展を停滞させる. この両化合物は, HSV-1 および HSV-2 の増殖を ACV よりはるかに効果的に抑制する. また, ACV 耐性 HSV および PFA 耐性 HSV の増殖も抑制する<sup>28)</sup>. しかし, VZV や CMV に対してはほとんど効果がない. 0.5~2.0  $\mu\text{M}$  の BAY 57-1293 存在下で耐性株を分離すると, 耐性株の出現率は  $0.5\sim 4.5 \times 10^{-5}$  であり, ACV 耐性株の出現率より一桁低かった. また, 変異は, UL5 と UL52 遺伝子に存在し, これらの化合物が helicase/primase 複合体を標的としていることが確認された. さらに, HSV-1 の UL5 遺伝子の変異は, 主にコドン 349~359 ( $\alpha$ -helix stretch HEFGNLMKVLE) の間に存在した. この領域は, helicase 活性に必須の6個のドメインの中の保存されたモチーフ IV の近傍に当たる<sup>28)</sup>.

これら2種類の化合物は, 動物実験でも毒性が低く, 経口吸収も良いこと(60%)が判明した. BILS 179 BS も BAY 57-1293 も経口投与で, マウスでの HSV-1 および HSV-2 による皮膚感染, および, モルモットでの HSV-2 による膣感染に著効を示した<sup>26, 28, 29)</sup>. 帯状疱疹様 HSV-1 感染に BAY 57-1293 を局所投与しても効果を認めた. これらの動物実験では, 両方の化合物が ACV よりはるかに効果的であり, 治癒までの期間が短縮し, 治療停止に伴う症状の悪化もなく, 再発の頻度も低下し, 再発しても症状の程度は軽度であった. これらの化合物の臨床応用により

HSV 感染症の治療の飛躍的な改善が期待される.

異なる化学構造を持つ化合物, T-0902611 は, HCMV の helicase/primase 複合体の primase と共有結合し, HCMV の増殖を特異的に抑制する<sup>30, 31)</sup>. 試験管内では, GCV の約30倍も効果があり, 第I相試験では, 骨髄に対する明らかな毒性も認められなかった.

### 3. DNA のカプシドへのパッケージの阻害化合物

ヘルペスウイルスの増殖過程では, ウイルス DNA は head-to-tail concatemer として生合成され<sup>32, 33)</sup>, カプシドにパッケージされるには, ゲノム単位の長さの DNA に切断される必要がある. このような concatemer の切断とパッケージには, HSV-1 では7個の遺伝子が関与している<sup>8)</sup>. すなわち, UL6, UL15, UL17, UL25, UL28, UL32 および UL33 の各遺伝子産物が必要である. 同様な遺伝子は他のヘルペスウイルスでも知られており, 例えば, HCMV では UL104, UL89, UL93, UL77, UL56, UL52 および UL51 がそれぞれに相当する<sup>34)</sup>. HCMV の UL56 と UL89 の産物はヘテロダイマーとなり, HCMV の terminase 複合体を形成している<sup>35, 36)</sup>. HCMV の UL56/UL89 複合体は, DNA 結合性があり, ゲノムの末端に存在するパッケージング配列 (pac) を認識する<sup>37, 38)</sup>. さらに, この UL56/UL89 複合体は, 核酸分解活性と ATPase 活性を持っている. DNA パッケージのキーとなるもう一つのタンパクは HSV-1 の UL6 産物, および, これに相当する他のヘルペスウイルスのタンパクである. UL6 遺伝子産物は, プロカプシドへ DNA が入り込む際

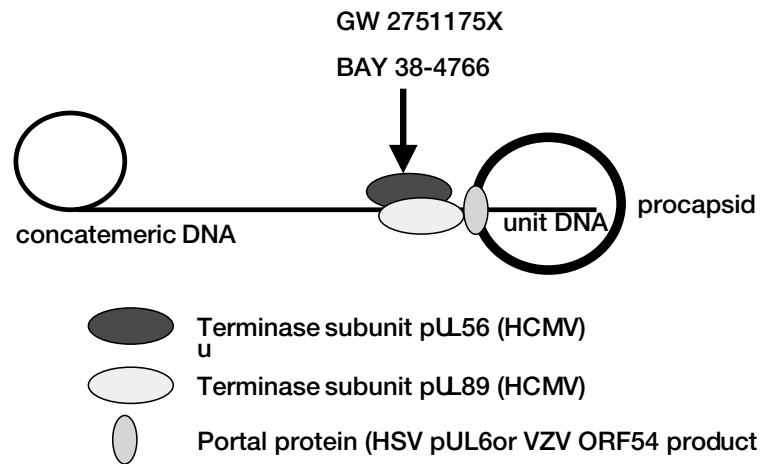
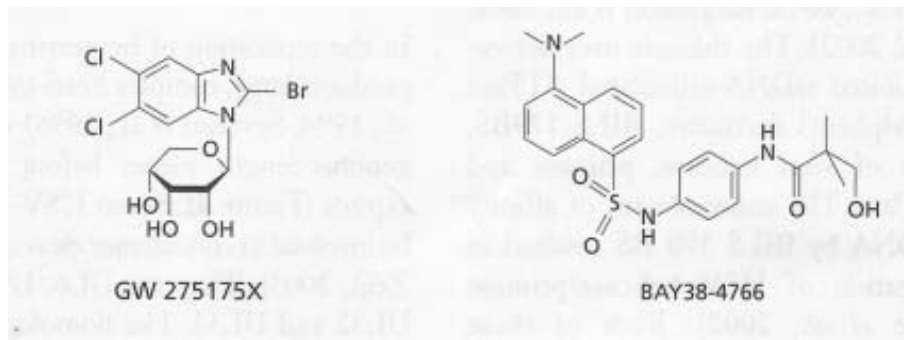


図 4. Terminase 抑制化合物の構造と作用機転

の入り口を形成する portal protein である<sup>39,40,41,42</sup>。

#### 1) terminase 複合体の阻害剤

terminase 複合体を標的として benzimidazole ribonucleoside 誘導体の BDCRB と TCRB が開発された<sup>43</sup>。これら化合物は、HCMV に選択的に効果があり、マウス CMV (MCMV) には効果を示さない。これらの化合物に耐性を示すウイルスは、HCMV の UL56 と UL89 遺伝子に変異を持っており<sup>44,45</sup>、BDCRB は、UL89 遺伝子産物の nuclease 活性、および、UL56 遺伝子産物の ATPase 活性を抑制する<sup>35,46</sup>。これらの化合物は、経口投与での吸収は良いが、血漿中での半減期が短いという欠点がある<sup>47</sup>。これらをリード化合物として、BDCRB の類似体である 275175X (175X) と 1263W94 (Maribavir) が合成された。175X は、D-ribose が pyranosyl の形であり (図 4)、Maribavir は L-ribofuransyl ヌクレオシドである<sup>48</sup>。175X は経口吸収も格段に良く、血清タンパクとの結合能も減少しており、BDCRB と同様に terminase 複合体の活性を阻害する。一方後述するように、Maribavir は異なる作用機序で HCMV の増殖を阻害する。

新たな化合物として、phenlenediamine-sulphonamide (BAY 38-4766) が concatemer の HCMV DNA の切断を抑制する

ことが報告されている (図 4)<sup>49</sup>。この化合物に対する耐性変異株は、UL56 遺伝子と UL89 遺伝子に変異を持っている<sup>49</sup>。しかし、BAY 38-4766 耐性 HCMV は、benzimidazole ribonucleoside 誘導体に交叉耐性を示さない<sup>50</sup>。さらに、BAY 38-4677 は、HCMV のみだけでなく、動物の CMVs (murine CMV, rat CMV, rhesus CMV) の増殖を阻害する<sup>49,51,52</sup>。第 1 相試験では、500mg 以上の一回の投与で HCMV に対する IC50 以上の血中濃度に達することが明らかとなっている<sup>51,52</sup>。モルモット CMV を用いた動物実験でも病状の改善、致死率の改善が見られている<sup>53</sup>。

#### 2) portal protein の阻害剤

portal protein は、DNA がカプシドにパッケージされる際の入り口として働くが、阻害剤として 2 種類の thiourea 誘導体が見出されている。すなわち、HSV-1 の portal protein である UL6 を標的として HSV-1 の増殖を阻害する WAY-150138 と、VZV の portal protein である ORF54 遺伝子産物を標的として VZV の増殖を阻害する Comp 1 である (図 5)<sup>54,55</sup>。この両誘導体は似通ってはいるが、特異性が高く、それぞれ HSV-1 および VZV のみを抑制し他のヘルペスウイルスには効果を認めない<sup>54,55</sup>。

#### 3) その他の阻害剤

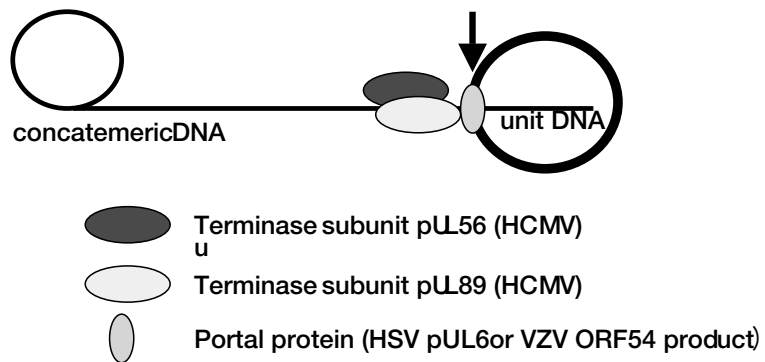
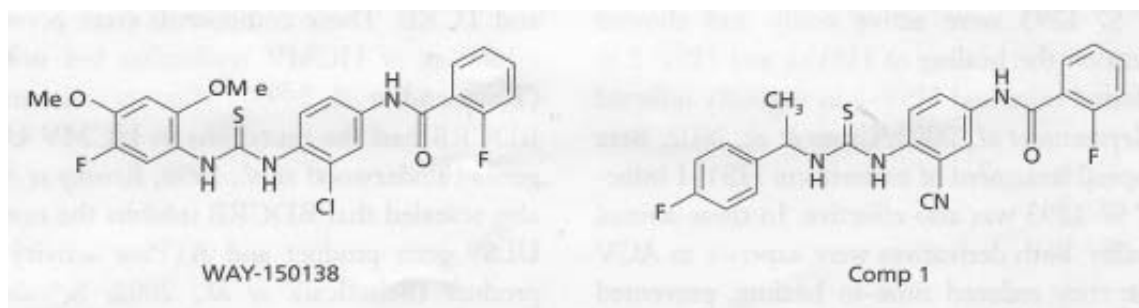


図5. Portal protein 抑制化合物の構造と作用機転

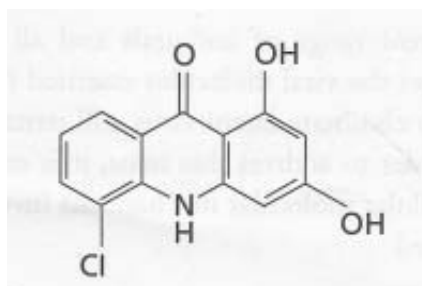


図6. 5-chloro-1,3-dihydroxyacridone の構造

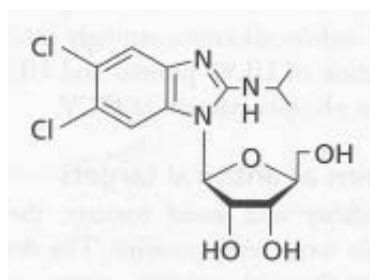


図7. Maribavir の構造

細胞のトポイソメラーゼ II 抑制剤である 5-chloro-1,3-dihydroxyacridine は HSV の増殖を抑制する (図 6)<sup>56)</sup>. この化合物は, ウイルス DNA の成熟を抑制し, ウイルスカプシドの産生を抑制する. しかし, 耐性ウイルスは得られておらず, その作用標的は不明である.

#### 4. HCMV の UL97 protein kinase 阻害剤

Maribavir は, 自然界には存在しない L-ribofuranosyl スクレオシドであり (図 7), GCV, PFA, BDCRB それぞれの耐性 HCMV に対しても増殖阻害効果を示す<sup>48, 57)</sup>. maribavir 耐性株の変異は UL97 protein kinase 遺伝子に存在し<sup>57)</sup>, 実際, maribavir は UL97 protein kinase 活性を阻害する<sup>58)</sup>. さらに, maribavir は, ウイルス DNA polymerase に作用することなくウイルス DNA の合成を阻害し, また, ゲノムを取り込んだカプシドの核から細胞質への移動 (egress) を阻害することが判明している<sup>59)</sup>. これらのメカニズムはこれまでではっきりしなかったが, maribavir 存在下で UL97 kinase 活性が低下すると, pp65 を中心としてテグメント蛋白の凝集が起こり, 大きな核内封入体を形成し, カプシドの egress が阻害されることが判明した<sup>60)</sup>. また, 最近, UL97 protein kinase 遺伝子以外に UL27 遺伝子の変異も maribavir 耐性となることが判明したが<sup>61, 62)</sup>, UL27 遺伝子の機能が未だ不明であり, その意義は充分には明らかでない. また, maribavir は, EBV の DNA 合成を阻害して EBV の増殖を抑制するが, HCMV の UL97 protein kinase ホモログである EBV の BGLF4 protein kinase に対する阻害作用はなく, 別のメカニズムで EBV の増殖を抑制すると考えられる<sup>63)</sup>.

maribavir の第 1 相試験では, 経口投与により容易に吸収され, 血漿中でも安定であった. HIV 感染者への投与では, HCMV の精液への排出が, 1,000~10,000 倍減少した<sup>64)</sup>. Maribavir で報告された副作用は味覚異常であるが, 一般的には重篤な副作用はなかった. 将来的に臨床応用が期待される化合物である.

幾つかの protein kinase inhibitors (PKIs) が試された結果, indolocarbazoles の K252a, K252c, Go6976 が GCV 感受性および耐性株に極めて効果的であることが判明した<sup>65)</sup>. これらの indolocarbazoles は UL97 タンパクのリン酸化や UL97 protein kinase 依存性の GCV のリン酸化を阻害する.

#### 5. 抗ウイルス標的としての細胞因子

現在使用されている抗ウイルス剤は, 特異性や毒性を避ける為, ウイルスタンパクを標的としている. しかし, このような抗ウイルス剤は, 効果的なウイルスの種類も少なく, 耐性ウイルスの出現が問題となる. ウイルス増殖に必要な細胞の因子 (タンパク) を標的とするこのような制約を免れる利点があると同時に, 深刻な副作用を来す可能性もある.

サイクリン依存性 kinase (cdk) 抑制剤である roscovitine は, HSV-1, HSV-2, VZV, および HIV-1 の増殖を抑制するが, ワクシニアや lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) には効果がない<sup>66, 67, 68)</sup>. さらに, 薬剤耐性 HIV-1 や HSV-1 にも効果がある. この薬剤は, 感染および非感染細胞の同じタンパクと結合しており, roscovitine が細胞因子を標的として HSV-1 の転写の promoter を特異的に抑制することが明らかとなった<sup>69)</sup>.

他の細胞因子の標的としては cyclooxygenase-2 (COX-2) があり, HCMV 感染後誘導される細胞の酵素である. COX-2 活性の産物であるプロスタグランジンも HCMV 感染後 50 倍に増加する. COX-2 抑制剤は, COX-2, プロスタグランジン E2 の誘導を抑制し, HCMV の増殖を 100 以下に抑える<sup>70)</sup>. COX-2 抑制剤は, HCMV の IE2 を抑えるが, IE1, mRNA, もしくは, DNA 複製は抑えない.

#### おわりに

癌患者, 臓器移植患者, さらにはエイズ患者などの易感染性宿主の増加に伴い, ヘルペスウイルス感染患者を如何に治療して行くかはますます大切な問題となっている. Idoxuridine が初めて角膜ヘルペスの治療に導入されて以来, ヘルペスウイルス感染症の治療薬が開発され使用されてきた. しかし, これらのほとんどの薬剤は, 最終的にウイルス DNA polymerase を標的としており, 長期投与による耐性ウイルスの出現を免れ得なかった. 幸いなことにこの数年間に, 異なるウイルス蛋白を標的とし, 交差耐性を克服できる抗ヘルペスウイルス化合物が開発されてきた. 勿論, これらの化合物は未だ臨床応用には至っていないが, かなり臨床応用の期待できる化合物もあり, ヘルペスウイルス感染症に対する多剤併用療法が可能になる日も遠くないものと考えられる.

#### 引用文献

- 1) Griffiths PD.: Herpesviruses and AIDS. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 100: 3-7, 1996.
- 2) Whitley RJ, Roizman B.: Herpes simplex virus infections. *Lancet* 357: 1513-1518, 2001
- 3) Frenkel N, Wyatt LS.: HHV-6 and HHV-7 as exogenous agents in human lymphocytes. *Developmental Biology Standards* 76: 259-265, 1992.
- 4) Zhuravskaya T, Maciejewski JP, Netski DM, Bruening E, Mackintosh FR, St Jeor S.: Spread of human cytomegalovirus (HCMV) after infection of human hematopoietic progenitor cells: model of HCMV latency. *Blood* 90: 2482-2491, 1997.
- 5) Black LW, Pellet PE.: Human herpesvirus 7. *Review of Medical Virology* 9: 245-262, 1999.
- 6) Sissons JG, Carmichael AJ.: Clinical aspects and management of cytomegalovirus infection. *Journal of Infection* 44: 78-83, 2002.

- 7) Ensoli B, Sturzl M, Monini P.: Reactivation and role of HHV-8 in Kaposi's sarcoma initiation. *Advances in Cancer Review* 81: 161-200, 2001.
- 8) Visalli P, van Zeijl M.: DNA encapsidation as a target for anti-herpesvirus drug therapy. *Antiviral Research* 59: 73-87, 2003.
- 9) Coen DM, Schaffer PA.: Antiherpesvirus drugs: a promising spectrum of new drugs and drug target. *Nature Reviews Drug Discovery* 2: 278-288, 2003.
- 10) Elion GB.: The biochemistry and mechanism of action of acyclovir. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 12 (Suppl. B): 9-17, 1983.
- 11) Litter E, Stuart AD, Chee MS.: Human cytomegalovirus UL97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir. *Nature* 358: 160-162, 1992.
- 12) De Clercq E, Walker RT.: Synthesis and antiviral properties of 5-vinyl-pyrimidine nucleoside analogs. *Pharmacology & Therapy* 26: 1-44, 1984.
- 13) Wutzler P, De Clercq E, Wutke K, Farber L.: Oral brivudin vs. intravenous acyclovir in the treatment of herpes zoster in immunocompromised patients: a randomized double-blind trial. *Journal of Medical Virology* 46: 252-257, 1995.
- 14) Crumacker CS.: Mechanism of action of foscarnet against viral polymerase. *American Journal of Medicine* 92: 3S-7S, 1992.
- 15) Neyts J, De Clercq E.: Mechanism of action of acyclic nucleoside phosphonate against herpesvirus replication. *Biochemical Pharmacology* 47: 39-41, 1994.
- 16) Cihlar T, Chen MS.: Identification of enzymes catalyzing two-step phosphorylation of cidofovir and the effect of cytomegalovirus infection on their activities in host cells. *Molecular Pharmacology* 50: 1502-1510, 1996.
- 17) Perry CM, Balfour JA.: Fomivirsen. *Drugs* 57: 375-380, 1999.
- 18) Leeds JM, Henry SP, Yruong L, Zutshi A, Levin AA, Kornbrust D.: Pharmacokinetics of a potential human cytomegalovirus therapeutic, a phosphorothioate oligonucleotide, after intravitreal injection in the rabbit. *Drug Metabolism & Disposition: the Biological Fate of Chemicals* 25: 921-926, 1997.
- 19) Balzarini J, McGuigan C.: Bicyclic pyrimidine nucleoside analogues (BCNAs) as highly selective and potent inhibitors of varicella-zoster virus replication. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50: 5-9, 2002.
- 20) Sienaert R, Andrei G, Snoeck R, De Clercq E, McGuigan C, Balzarini J.: Inactivity of the bicyclic pyrimidine nucleoside analogues against simian varicella virus (SVV) does not correlate with their substrate activity for SVV-encoded thymidine kinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 315: 877-883, 2004.
- 21) Brideau RJ, Knechtel ML, Huang A, Vaillancourt VA, Vera EE, Oien NL, Hopkins TA, Wieber JL, Wilkinson KF, Rush BD, Schwende FJ, Wathen MW.: Broad-spectrum antiviral activity of PNU-183792, a 4-oxo-dihydroquinoline, against human and animal herpesviruses. *Antiviral Research* 54: 19-28, 2002.
- 22) Knechtel ML, Huang A, Vaillancourt VA, Brideau RJ.: Inhibition of clinical isolates of human cytomegalovirus and varicella zoster virus by PNU-183792, a 4-oxo-dihydroquinoline. *Journal of Medical Virology* 68: 234-236, 2002.
- 23) Wathen NW.: Non-nucleoside inhibitors of herpesviruses. *Review of Medical Virology* 12: 167-178, 2002.
- 24) Tomsen DR, Oien NL, Hopkins TA, Knechtel ML, Brideau RJ, Wathen MW, Homa FL.: Amino acid changes within conserved region III of the herpes simplex virus and human cytomegalovirus DNA polymerases confer resistance to 4-oxo-dihydroquinolines, a novel class of herpesvirus antiviral agents. *Journal of Virology* 77: 1868-1876, 2003.
- 25) Crumacker CWS, Schaffer PA.: New anti-HSV therapeutics target the helicase-primase complex. *Nature Medicine* 8: 327-328, 2002.
- 26) Crute JJ, Grygon CA, Hargrave KD, Simoneau B, Faucher AM, Bolger G, Kiber P, Liuzzi M, Cordingly MG.: Herpes simplex virus helicase-primase inhibitors are active in animal models of human diseases. *Nature Medicine* 8: 386-391, 2002.
- 27) Zhu LA, Weller SK.: The UL5 gene of herpes simplex virus type 1: Isolation of a LacZ insertion mutant and association of the UL5 gene product with other members of the helicase-primase complex. *Journal of Virology* 66: 1458-1468, 1992.
- 28) Kleymann G, Fischer R, Betz UA, Hendrix M, Bender W, Schneider U, Handke G, Eckenberg P, Hewlett G, Pevzner V, Baumeister J, Weber O, Henninger K, Keldenich J, Jensen A, Kolb J, Bach U, Popp A, Maben J, Frappa L, Haebich D, Lockhoff O, Rubsamen-Waigmann H.: New helicase-primase inhibitors as drug candidates for the treatment of herpes simplex virus disease. *Nature Medicine* 8: 392-398, 2002.
- 29) Betz UA, Fischer R, Kleymann G, Hendrix M, Rubsamen-Waigmann H.: Potent in vivo activity of the herpes simplex virus helicase-primase inhibitor BAY 57-1293. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 46: 1766-1771, 2002.
- 30) Chen X, et al.: SAR studies of a novel series human cytomegalovirus primase inhibitors. 4th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Abstract F-1672 (Chicago, 2001)
- 31) Powers JP, et al.: Design of T0902611. 4th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Abstract F-1672 (Chicago, 2001)
- 32) Zhang X, Efsthathiou S, Simmons A.: Identification of novel herpes simplex virus replicative intermediates by field inversion gel electrophoresis : implication for viral DNA amplification strategies. *Virology* 202: 32-33, 1994.
- 33) Severini A, Scraba DG, Tyrrell DL.: Branched structures in the intracellular DNA of herpes simplex virus type 1. *Virology* 70: 3169-3175, 1996.
- 34) Chee MS, Bankeir AT, Beck S, Bohni R, Brown CM, Cerny R, Horsnel T, Hutchinson CAI, Kouzaride T,



- Martignetti JA, Preddie E, Satchwell SP, Tomlinsen P, Weston KM, Barrel BG.: Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169. *Current Topics in Microbiology & Immunology* 154: 125-170, 1990.
- 35) Scheffczik H, Savva CG, Holzenburg A, Kolesnikova L, Bogner E.: The terminase subunits pUL56 and pUL89 of human cytomegalovirus are DNA-metabolizing proteins with toroidal structure. *Nucleic Acids Research* 30: 1695-1703, 2002.
  - 36) Giesen K, Radsak K, Bogner E.: Targeting of the gene product encoded by ORF UL56 of human cytomegalovirus into viral replication centers. *FEBS Letter* 471: 215-218, 2000.
  - 37) Bogner E, Radsak K, Stinski MF.: The gene product of human cytomegalovirus open reading frame UL56 binds the pac motif and had specific nuclease activity. *Journal of Virology* 72: 2257-2264, 1998.
  - 38) Bogner E.: Human cytomegalovirus terminase as a target for antiviral chemotherapy. *Review of Medical Virology* 12: 115-127, 2002.
  - 39) Newcomb WW, Brown JC.: Induced extrusion of DNA from the capsid of herpes simplex type 1. *Journal of Virology* 68: 433-440, 1994.
  - 40) Newcomb WW, Brown JC.: Inhibition of herpes simplex virus replication by WAY-150138: assembly of capsid depleted of the portal and terminase proteins involved in DNA encapsidation. *Journal of Virology* 76: 10084-10088, 2002.
  - 41) Newcomb WW, Juhas RM, Thomsen DR, Homa FL, Burch AD, Weller SK, Brown JC.: The UL6 gene product forms the portal for entry of DNA into the herpes simplex virus capsid. *Journal of Virology* 75: 10923-10932, 2001a.
  - 42) Newcomb WW, Homa FL, Thomsen DR, Brown JC.: In vitro assembly of the herpes simplex virus procapsid: formation of small procapsids at reduced scaffolding protein concentration. *Journal of Structural Biology* 133: 23-31, 2001b
  - 43) Townsend LB, Devivar RV, Turk SR, Nassiri MR, Drach JC.: Design, synthesis, and antiviral activity of certain 2,5,6-tri-halo-1-(beta-D-ribofuranosyl)benzimidazoles. *Journal of Medical Chemistry* 38: 4098-4105, 1995.
  - 44) Underwood MR, Harvey RJ, Stanat SC, Hemphill ML, Miller T, Drach JC, Townsend LB, Biron KK.: Inhibition of human cytomegalovirus DNA maturation by a benzimidazole ribonucleoside is mediated through the UL89 gene product. *Journal of Virology* 72: 717-725, 1998.
  - 45) Krosky PM, Underwood MR, Yurk SR, Feng KW, Jain PK, Ptak RG, Westerman AC, Biron KK, Townsend LB, Drach JC.: Resistance of human cytomegalovirus to benzimidazole ribonucleosides maps to two open reading frames: UL89 and UL56. *Journal of Virology* 72: 4721-4728, 1998.
  - 46) Scholz B, Rechter S, Drach JC, Townsend LB, Bogner E.: Identification of the ATP-binding site in the terminase subunit pUL56 of human cytomegalovirus. *Nucleic Acids Research* 31: 1426-1433, 2003.
  - 47) Good SS, Owens BS, Townsend LB, Drach JC.: The disposition in rats and monkey of 2-bromo-5,6-dichloro-1-( $\beta$ -D-ribofuranosyl)-benzimidazole (BDCRB) and its 2,5,6-trichloro congener (TCRB). *Antiviral Research* 23: Suppl. I, 103, 1994.
  - 48) Williams SW, Hartline CB, Kushner NL, Harden EA, Bidanst DJ, Drach JC, Townsend LB, Underwood MR, Biron KK, Kern ER.: In vitro activities of benzimidazole D- and L-ribonucleosides against herpesviruses. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 47: 2186-2192, 2003.
  - 49) Buerger I, Reefschlaeger J, Bender W, Eckenberg P, Popp A, Weber O, Graeper S, Klenk HD, Ruebsamen-Waigmann H, Hallenberger S.: A novel non-nucleoside inhibitor specifically targets cytomegalovirus DNA maturation via the UL89 and UL56 gene products. *Journal of Virology* 75: 9077-9086, 2001.
  - 50) Evers DL, Komazin G, Shin D, Hwang DD, Townsend LB, Drach JC.: Interactions among antiviral drugs acting late in the replication cycle of human cytomegalovirus. *Antiviral Research* 56: 61-72, 2002.
  - 51) Reefschlaeger J, Bender W, Hallenberger S, Weber O, Eckenberg P, Goldmann S, Haerter M, Buerger I, Trappe J, Herrington JA, Haebich D, Ruebsamen-Waigmann H.: Novel non-nucleoside inhibitors of cytomegalovirus (BAY 38-4766): in vitro and in vivo antiviral activity and mechanism of action. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48: 757-767, 2001.
  - 52) Weber O, Bender W, Eckenberg P, Goldmann S, Haerter M, Hallenberger S, Henninger K, Reefschlaeger J, Trappe J, Witt-Laido A, Ruebsamen-Waigmann H.: Inhibition of murine cytomegalovirus and human cytomegalovirus by a novel non-nucleoside compound in vivo. *Antiviral Research* 49: 179-189, 2001.
  - 53) Schleiss MR, Bernstein DI, McVoy MA, Stroup G, Bravo F, Creasy B, McGregor A, Henninger K, Hallenberger S.: The non-nucleoside antiviral, BAY 38-5766, protects against cytomegalovirus (CMV) disease and mortality in immunocompromised guinea pigs. *Antiviral Research* 65: 35-43, 2005.
  - 54) van Zeijl M, Fairhurst J, Jones TR, Morin J, LaRocque J, Feld B, O'Hara B, Bloom JD, Johann SV.: Novel class of thiourea compounds that inhibit herpes simplex virus type 1 DNA cleavage and encapsidation: resistance maps to the UL6 gene. *Journal of Virology* 74: 9054-9061, 2000.
  - 55) Visalli RJ, Fairhurst J, Srinvas S, Hu W, Feld B, DiGrandi M, Curran K, Ross A, Bloom JD, van Zeijl M, Jones TR, O'Connell J, Cohn JL.: Identification of small molecule compounds that selectively inhibit varicella-zoster virus replication. *Journal of Virology* 77: 2349-2358, 2003.
  - 56) Akantitapichat P, Bastow KF.: The antiviral agent 5-chloro-1,3-dihydroxyacridone interferes with assembly and maturation of herpes simplex virus. *Antiviral Research* 53: 113-126, 2000.
  - 57) McSharry JJ, McDonough A, Olson B, Talarico C,

- Davis M, Biron KK.: Inhibition of ganciclovir-susceptible and -resistant human cytomegalovirus clinical isolates by the benzimidazole L-ribose 1263W94. *Clinical Diagnosis & Laboratory Immunology* 8: 1279-1281, 2001.
- 58) Biron KK, Harvey RJ, Chamberlain SC, Good SS, Smith IA, Davis MG, Talarico CL, Townsend LB, Koszalka GW.: Potent and selective inhibition of human cytomegalovirus replication by 1263W94, a benzimidazole L-ribose with a unique mode of action. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 46: 1766-1772, 2002.
- 59) Krosky PM, Baek M, Coen DM.: Cytomegalovirus UL97 protein kinase, an antiviral drug target, is required at the stage of nuclear egress. *Journal of Virology* 77: 906-914, 2003.
- 60) Prichard MN, Hartline CB, Britt WJ, Kern ER.: Maribavir induces the formation of tegument aggregates in cells infected with human cytomegalovirus. The 18th International Conference on Antiviral Research Abstract 13, A34, (Barcelona, 2005).
- 61) Komazin G, Ptak RG, Emmer BT, Townsend LB, Drach JC.: Resistance of human cytomegalovirus to the benzimidazole L-ribonucleoside maribavir maps to UL27. *Journal of Virology* 77: 11499-11506, 2003.
- 62) Chou S, Marousek GI, Senters AE, Davis MG, Biron KK.: Mutations in the human cytomegalovirus UL27 gene that confer resistance to maribavir. *Journal of Virology* 78: 7124-7130, 2004.
- 63) Gershburg E, Hong K, Pagano JS.: Effects of maribavir and selected indolocarbazoles on Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 and on viral lytic replication. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 48: 1900-1903, 2004.
- 64) Lalezari JP, Aberg JA, Wang LH, Wire MB, Miner R, Snowdden W, Talarico CL, Shaw S, Jacobson MA, Drew WL.: Phase I dose escalation trial evaluating the pharmacokinetics, anti-human cytomegalovirus (HCMV) activity, and safety of 1263W94 in human immunodeficiency virus-infected men with asymptomatic HCMV shedding. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 46: 2969-2976, 2002.
- 65) Zimmermann A, Wilts H, Lenhardt M, Hahn M, Mertens T.: Indolocarbazoles exhibit strong antiviral activity against human cytomegalovirus and are potent inhibitors of the pUL97 protein kinase. *Antiviral Research* 48: 49-60, 2000.
- 66) Schang LM.: Effects of pharmacological cyclin-dependent kinase inhibitors on viral transcription and replication. *Biochimica et Biophysica Acta* 1697: 197-209, 2004
- 67) Moffat JF, McMichael MA, Leisenfelder SA, Taylor SL.: Viral and cellular kinases are potential antiviral targets and have a central role in varicella zoster virus pathogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1697: 225-231, 2004.
- 68) Taylor SL, Kinchington PR, Brooks A, Moffat JF.: Roscovitine, a cyclin-dependent kinase inhibitor, prevents replication of varicella-zoster virus. *Journal of Virology* 78: 2853-2862, 2004.
- 69) Diwan P, Lacasse JJ, Schang LM.: Rocovitine inhibits activation of promoters in herpes simplex virus type 1 genomes independently of promoter-specific factors. *Journal of Virology* 78: 9352-9365, 2004.
- 70) Zhu H, Cong JP, Yu D, Breshnahan WA, Shenk TE.: Inhibition of cyclooxygenase 2 blocks human cytomegalovirus replication. *Proceeding of National Academy of Science, USA* 99: 3932-3937, 2002

## New antivirals for herpesviruses

**Yoshito Eizuru M.D, Ph.D**

Center for Chronic Viral Diseases, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University  
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520 Japan  
E-mail : ccvdgan@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp

The long-term treatment of herpesvirus infections with current antivirals leads to the development of drug-resistant viruses. Because currently available antivirals finally target the viral DNA polymerase, mutant resistant to one drug often shows cross-resistance to other drugs. This evidence highlights the need for the development of new antivirals that have the different viral targets. Recently, high-through-put screening of large compound collections for inhibiting specific viral enzymes, or in vitro cell culture assay, has identified several new antivirals. These include the inhibitors of helicase/primase complex, terminase complex, portal protein and UL97 protein kinase. This review will focus on these new compounds that directly inhibit viral replication.